

## ХАРАКТЕР ЗАВИСИМОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ ПРИРУСЛОВЫХ ИВ ОТ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В СВЯЗИ СО СТРУКТУРОЙ ИХ МОЛЕКУЛ

Витебский государственный  
медицинский университет

На примере прирусловых видов ив изучено влияние введения заместителей в различные положения молекул флавонов и флавонолов на изменение характера их адаптивной реакции на экологические факторы среды. Установлено, что наибольшее значение имеют заместители в положениях 3 и 4'.

### ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды играют существенную роль в адаптации растений к условиям окружающей среды [1] Это подтверждается как значительной вариабельностью их содержания в растениях из разных местобитаний, так и широтой реакции на экологические факторы [3]. Предполагается, что адаптивная роль этой группы соединений сильно зависит от структуры их молекул, но экспериментальных данных по данному направлению накоплено недостаточно, что связано с трудоемкостью как сбора образцов сырья в природных популяциях, в максимально широком для каждого вида диапазоне эдафических и климатических факторов, так и количественного определения индивидуальных флавоноидных компонентов в достаточной для статистической обработки выборке.

В настоящей работе предпринята попытка обобщить результаты многолетних исследований по изучению влияния отдельных экологических факторов на содержание флавоноидов в листьях прирусловых видов ив с целью сравнения адаптивной роли соединений с различным количеством и местоположением функциональных групп.

Материалом явились образцы листьев трех видов рода *Salix*: *S. triandra* L., *S. alba* L. и *S. acutifolia* Willd., собранные в период конца вегетации от нормально развитых особей в средней части кроны в средней части годовых побегов. Места сбора были подобраны с таким расчетом, чтобы как можно полнее отразить экологическую амплитуду каждого вида, а также в разных климатических зонах в пределах ареала [5]. Всего было отобрано 169 образцов листьев ивы трехтычинковой, 139 – ивы остролистной и 111 – ивы белой. В каждой ценопопуляции отбирались также по 3 образца почвы, в которых по общепринятым агрохимическим методикам определяли гранулометрический состав, гигроскопическую влажность, pH почвенного раствора, емкость поглощения, содержание подвижных форм калия и фосфора. [4]

Листья были подвергнуты воздушно-теневой сушке, и в них определяли содержание флавоноидов хроматоспектрофотометрическим способом.[2] Обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере с помощью статистического пакета «Statistica for Windows» 99 editions, «Exel 2000» и включала расчет коэффициентов детерминации химических признаков ив и отдельных климатических и почвенно-гидрологических факторов. Их достоверность проверяли по F-критерию Фишера и для достоверных на 95% уровне и выше связей рассчитывались также уравнения регрессии. Характер связи определяли по графикам уравнений регрессии, построенным для 10 экологических факторов, которые имеют наибольшее количество достоверных связей с содержанием флавоноидов в листьях ив.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### Флавоноиды с различным количеством свободных гидроксильных групп

В листьях изучаемых видов ив присутствуют флавоноиды с тремя, четырьмя и пятью гидроксильными группами. Для сравнения их адаптивной роли

были отобраны пары соединений, различающиеся только одним гидроксильным (табл.1 и 2). Например, кверцетин отличается от лютеолина наличием оксигруппы в 3 положении. Для этой пары характерны довольно значительные различия ответной реакции на большинство из рассмотренных экологических факторов. Максимум накопления лютеолина в листьях *S.triandra* отмечается при pH = 6-6,5, содержании подвижного Р и К 12 и 10 мг% соответственно. При переходе к соединению с дополнительной ОН-группой в 3 положении наблюдается смещение максимумов в сторону более высоких значений pH почвенного раствора и более низких показателей обеспеченности подвижными формами Р и К. Реакция на изменение ёмкости поглощения у лютеолина и кверцетина зеркально противоположная - максимум накопления одного из соединений соответствует минимуму другого. Аналогичное явление наблюдается и в листьях *S.alba*. Здесь зависимость содержания лютеолина от гигроскопической влажности почвы, содержания подвижного К и количества частиц с размерами 0,5 - 0,25 мм полностью противоположна той, которая характерна для накопления кверцетина. Такие резкие различия в поведении флавонов и флавонолов свидетельствуют об их разной роли в приспособлении растения к изменению этих эдафических факторов.

Что касается *S.acutifolia*, то здесь следует отметить большее сходство в изменении содержания кверцетина и лютеолина в зависимости от условий окружающей среды, чем у вышерассмотренных видов. Наблюдается лишь небольшое смещение положений минимумов и максимумов накопления. У всех трёх видов отчётливо прослеживается тенденция к снижению амплитуды ответной реакции при увеличении числа гидроксильных групп. Высота пиков уменьшается, в некоторых случаях криволинейная зависимость превращается в прямолинейную.

Из флавоноидных соединений, различающихся количеством оксигрупп в В-кольце, также выбраны несколько пар: апигенин - лютеолин, их 7-О-гликозиды (*S.acutifolia*); кемпферол - кверцетин и

апигенин-7-О-гликозид - лютеолин-7-О-гликозид (*S.alba*) (табл.1 и 2). При внимательном рассмотрении поведения этих соединений обнаруживается практически полное его совпадение в пределах каждой пары. Небольшое смещение максимумов накопления встречается крайне редко, а в отношении амплитуды ответной реакции на условия окружающей среды следует сказать, что различия здесь также незначительные и в целом подтверждают тенденцию, отмеченную выше.

Таким образом, введение дополнительного гидроксила в В-кольцо молекулы флавоноида практически не влияет на характер связи "экологический фактор - содержание флавоноида", что, вероятно, свидетельствует о сходной роли в адаптации растений моно- и дигидроксилированных в В-кольце производных флавоноидов ( флавонов и флавонолов, гликозидов и агликонов ). Переход же от флавонов к флавонолам, т.е. введение дополнительной ОН-группы в 3 положение, сопровождается значительно большими изменениями в характере зависимости содержания флавоноидов от экологических факторов. Эти изменения проявляются как в смещении максимумов накопления, так и в амплитуде ответной реакции, в отдельных случаях зависимость приобретает обратный характер. Всё это говорит в пользу того, что роль флавонов и флавонолов в адаптации растений принципиально различна.

#### Флавоноиды с замещёнными гидроксильными в А-кольце

Гидроксильные группы в молекуле флавоноидов могут подвергаться метилированию и гликозидированию. Рассмотрим сначала эффект введения в молекулу флавоноидов сахарных компонентов. В листьях *S.acutifolia* синтезируются лютеолин и два его гликозида - 7-О-гликозид и 7-О-галактозид. Зависимость содержания лютеолина от экологических факторов выражается в основном уравнением параболы второго порядка с минимумом накопления при ёмкости поглощения 25 м-экв на 100 г почвы, содержании подвижного Р и К 20 и 5 мг% соответственно, 1% гигроскопической влажности и

количестве осадков в тёплый период 400 мм (табл. 3 и 4). Появление сахарного компонента в 7 положении заметно изменяет характер связи. За несколькими исключениями она находит математическое выражение в более сложной кривой - параболе третьего порядка - с заметными смещениями минимумов накопления вправо. Несколько уменьшается при этом высота пиков.

Следует отметить, что природа сахарного компонента не оказывает влияния на характер связи: оба гликозида ведут себя практически идентично. Такие же пары - лютеолин и его 7-О-глюкозид - имеются и в листьях *S.alba* (табл. 1 и 2) и *S.triandra* (табл. 5 и 6). Различия в поведении этих веществ не столь существенны, как у *S.acutifolia*. Сдвиги минимумов накопления незначительные, а амплитуда реакции немного уже у лютеолина, чем у его глюкозида. Эффект гликозидирования в 7 положении можно рассмотреть и на примере других пар: апигенин - космосин у *S.acutifolia* (табл. 1 и 2) и диосметин - диосметин-7-О-дигликозид у *S.triandra* (табл. 5 и 6). Так же, как и для лютеолина, для апигенина при его гликозидировании в 7 положении возрастает сложность кривой и происходит смещение точек экстремума в область более высоких показателей аргумента. Уменьшения высоты пиков при этом, однако, не наблюдается.

Несколько по-иному обстоит дело с диосметином. Зависимость его содержания от экологических факторов носит в основном прямолинейный характер. Это верно по отношению к содержанию подвижных форм К, гранулометрическому составу аллювия и сумме температур выше 10 С. В трёх других случаях зависимость криволинейная с максимумами накопления при рН почвенного раствора 6-6,5 и 8, ёмкости поглощения 20 м-экв на 100 г почвы и гигроскопической влажности почвы 7%. При введении двух сахарных компонентов в положение 7 характер связи претерпевает серьёзные изменения, в ряде случаев приобретая противоположную направленность (рН, ёмкость поглощения, количество осадков в тёплый период). В двух случаях происходит смещение максимума на-

копления 7-О-дигликозида диосметина влево по сравнению со своим агликоном. Сложность кривых и амплитуда ответной реакции не изменяются.

Влияние замещения гидроксильной группы в 7 положении на метоксильную изучали как на примере агликонов (кверцетин - рамнетин), так и гликозидов (нарциссин - альбозид; рутин - рамнетин-3-О-дигликозид) (табл.3 и 4). Отношения между экологическими факторами и содержанием кверцетина в листьях *S.alba* описываются параболой второго и третьего порядка. Лишь в случае показателя суммы температур выше 10 С имеет место обратно-пропорциональная зависимость. Оптимальными условиями для накопления данного соединения являются содержание подвижного К менее 5 и 25 мг%, минимальная гигроскопическая влажность почвы (до 1%), 400 мм осадков в тёплый период, а также аллювиальные отложения с преобладанием фракций с размерами частиц 0,5-0,25 мм и менее 0,01 мм (по 30-35%), 0,25-0,05 мм (15%).

При появлении метокси-группы в 7 положении происходят резкие изменения в характере связи, в большинстве случаев она становится зеркально противоположной. Особенно наглядно это проявляется на примере гранулометрического состава аллювия. В отличие от агликонов, гликозиды практически не изменяют своего поведения после метилирования в 7 положении. Как для нарциссина, так и для альбозида максимумы накопления в листьях *S.alba* приходятся на следующие числовые показатели: ёмкость поглощения более 40 м-экв на 100 г почвы, гигроскопическая влажность 1,5 и 5,5%, количество частиц с размерами 0,25-0,05 мм 20-25%, сумма температур выше 10 С 3500 град, количество осадков в тёплый период менее 300 мм. В качестве небольшого отличия можно указать на чуть меньшую амплитуду реакции метоксилированного производного. Аналогичным образом ведёт себя и другая пара гликозидов - рутин и рамнетин-3-О-дигликозид из листьев *S.triandra*. Влияние метилирования здесь также практически незаметно.

Таким образом, заместители в 7

положении (А-кольцо молекулы флавоноидов) в большинстве случаев практически не изменяют характера адаптивной реакции флавоноидов в ответ на изменение экологических факторов, лишь несколько снижая её амплитуду. Исключение составляют дигликозидированные в 7 положении соединения (диосметин-7-О-дигликозид) и особенно 7-метоксилированные агликоны (рамнетин), адаптивная роль которых, по-видимому, отлична от присущей соединениям со свободным гидроксилом в 7 положении. 3-О-гликозиды флавонолов Самый распространённый в природе тип гликозидов (3-О-гликозиды) представлен в листьях изучаемых видов и в сравнительно нешироко. Можно выделить две группы соединений: кверцетин - изокверцитрин - рутин (*S.triandra*) и изорамнетин - изорамнетин-3-О-глюкозид - нарциссин (*S.alba*) (табл. 3 и 4). В каждой из этих групп присутствует агликон и его моно- и дигликозиды. Однако из-за недостаточного количества достоверных связей содержания изорамнетина с экологическими факторами мы ограничимся анализом взаимоотношений в первой группе.

Зависимость содержания кверцетина в листьях *S.triandra* носит прямолинейный характер в 4 случаях из 7. При этом его содержание тем выше, чем ниже сумма температур выше 10 °C, содержание подвижного К и частиц с размерами менее 0,01 мм. В отношении более крупных частиц (0,25-0,05 мм) наблюдается обратная закономерность. Криволинейная зависимость характерна для таких показателей как рН, ёмкость поглощения и содержание подвижного Р. После присоединения глюкозы в 3 положении характер зависимостей резко изменяется, иногда до зеркального противоположного (ёмкость поглощения, подвижный К). При присоединении ещё и рамнозы наблюдается новый скачок, причём зеркальное отображение встречается уже в большинстве случаев. Но лишь зависимость от ёмкости поглощения становится для рутина сходной с предложенной для кверцетина. Остальные же по своему характеру далеки почти в равной степени как от описанных для агликона, так и для его моно-гликозида. Ам-

плитуда реакции на условия окружающей среды у кверцетина и изокверцитрина практически одинакова, у рутина же резко сужается.

Таким образом, агликоны флавонолов, их 3-О-моно- и дигликозиды по-разному реагируют на изменение экологических факторов и, следовательно, адаптивная роль их представляется тоже различной.

#### Флавоноиды с замещёнными гидроксилами в В-кольце.

Ранее отмечалось, что метоксилированные в В-кольце флавоноиды отличаются от своих гидроксильных предшественников значительным сужением широты реакции на экологические факторы и уменьшением вариабельности. Здесь мы рассмотрим влияние процесса метилирования на характер связи "фактор - признак", изучив поведение флавоноидов попарно: рутин - нарциссин (*S.alba*), лютеолин - диосметин и лютеолин-7-О-глюкозид - диосметин-7-О-дигликозид (*S.triandra*) (табл. 5 и 6).

Зависимость содержания рутина в листьях *S.alba* от экологических факторов описывается в большинстве случаев уравнением параболы третьего порядка с максимумами накопления при числовых значениях показателей суммы температур выше 10 °C 3000 град, количества осадков в тёплый период 300 мм, содержанию в аллювии частиц с размерами 0,5-0,25 мм более 30%, с размерами 0,25-0,05 мм 20% и частиц мельче 0,01 мм - 30%. Зависимость содержания данного вещества от гигроскопической влажности почвы и содержания в ней подвижных форм К носит прямопропорциональный характер. При метилировании гидроксила в положении 3' характер зависимости изменяется. Различия связаны в основном с уменьшением амплитуды ответной реакции на воздействие экологических факторов. Кривые становятся более пологими, в ряде случаев отмечается замена их на прямые линии. Смещения максимумов накопления наблюдаются как влево, так и вправо, но в целом они незначительны по величине.

Аналогичные изменения претерпевают графики зависимости содержания

лютеолин-7-О-глюкозида в листьях *S. triandra* при переходе к его метилированному производному. Здесь также следует отметить уменьшение высоты пиков и сложности кривой. Однако смещения максимумов накопления у данной пары соединений прослеживается значительно отчетливее по сравнению с вышерассмотренными. Ещё в большей мере выражены изменения характера связи при метилировании ОН-группы в 4' положении у лютеолина. В половине случаев можно обнаружить зеркальное отображение, т.е. максимум накопления лютеолина соответствует минимуму накопления диосметина и наоборот. Амплитуда реакции у диосметина на экологические факторы также заметно снижена.

Таким образом, метилирование гидроксильных групп в В-кольце флавоноидов приводит к заметному изменению их адаптивной роли, заключающегося в основном в снижении реакции на экологические факторы. При этом метилирование в 4' положении вызывает значительно более резкие изменения характера связи по сравнению с 3' положением вплоть до полностью противоположного.

## ВЫВОДЫ

1. Характер адаптивной реакции флавоноидов с одной и двумя гидроксильными группами в В-кольце практически одинаков, но широта реакции и вариабельность выше у дигидроксилированных соединений.

2. Метилирование и гликозидирование ОН-группы в 7 положении также, за несколькими исключениями, очень мало влияет на характер адаптивной реакции флавоноидов.

3. Моногликозиды в положении 3 по сравнению со своими агликонами резко изменяют характер реакции вплоть до зеркально противоположного, широта реакции при этом меняется мало. Дигликозиды в 3 положении отличаются по своей адаптивной роли как от агликонов, так и от моногликозидов.

4. Наиболее существенно экологическая функция флавоноидов изменяется при

замещении гидроксильных групп в В-кольце, особенно в положении 4', при этом значительно снижается реакция метоксилированных соединений на экологические факторы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Запроматов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. – М., Наука, 1993. – 271 с.
2. Кузьмичева Н.А., Шелюто В.Л. Хроматоспектрофотометрическое определение флавоноидов в листьях видов рода *Salix* L // Вестні АН Беларусі. Сер. біялаг. навук. 1992. №3-4. С.14-18.
3. Кузьмичева Н.А. Зависимость содержания флавонов и флавонолов в листьях прирусовых видов ив от климатических и эдафических факторов. // Вестник фармации, №2-3, 1998, с.77-81
4. Практикум по агрохимии: Учеб. Пособие для с.-х. вузов / Под ред. Вильдфлуша М.Р., Кукреша С.А. –Мн.: Ураджай, 1998. – 270 с.
5. Скворцов А.К. Ивы СССР. – М.: Наука, 1968. – 262 с.

## SUMMARY

The effect of the methylation or glycosilation in the different states of the flavons and flavonols molecules on the changing of character theirs adaptive ecological reaction was studied on the example of willow species. States 3 and 4' are of most importance.

Таблица 1

Характер зависимости содержания флавоноидов в листьях ив от агрохимических показателей почвы в связи с количеством гидроксильных групп в молекуле флавоноида

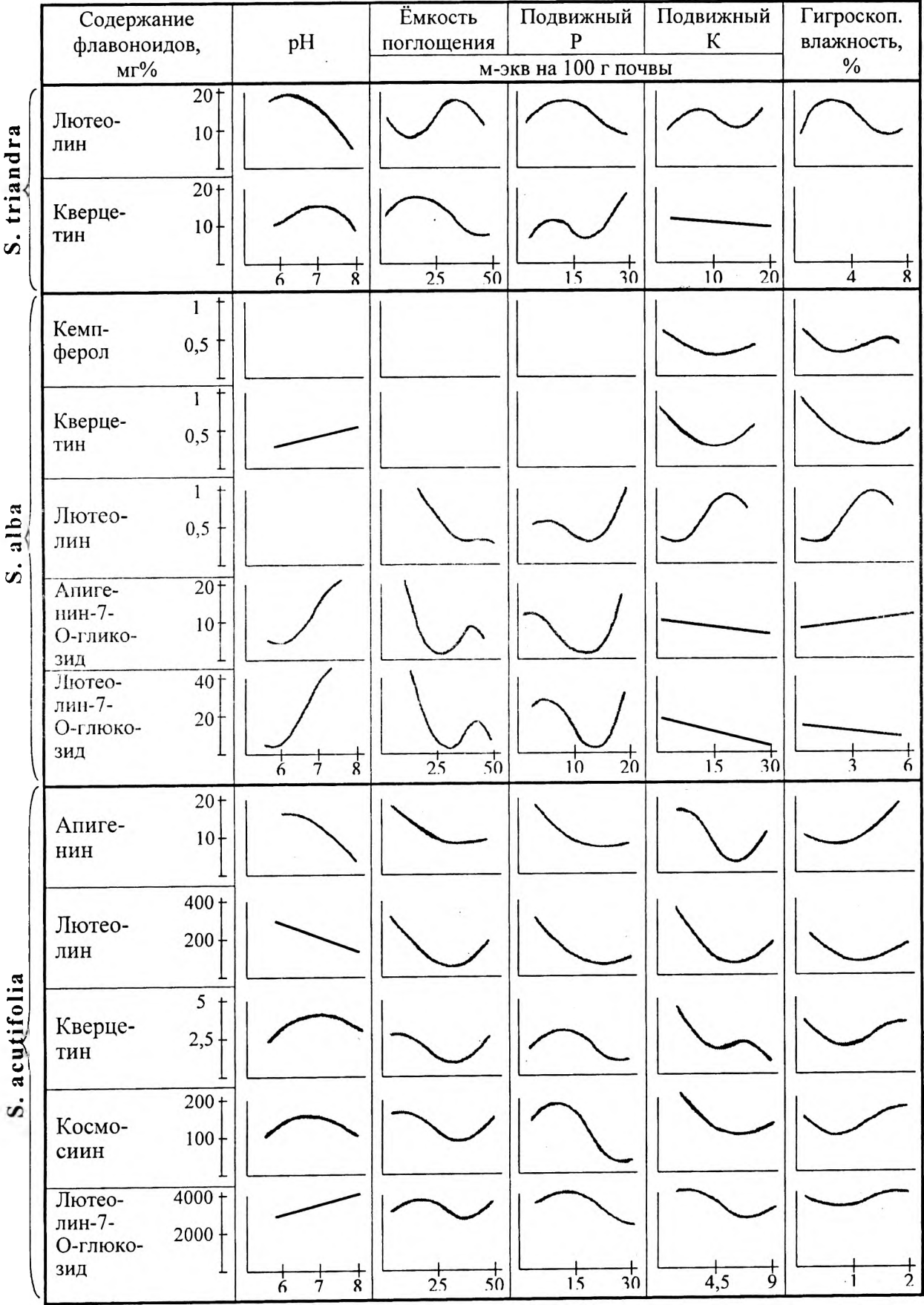


Таблица 2

Характер зависимости содержания флавоноидов в листьях ив от гранулометрического состава аллювия и климата в связи с количеством гидроксильных групп в молекуле флавоноида

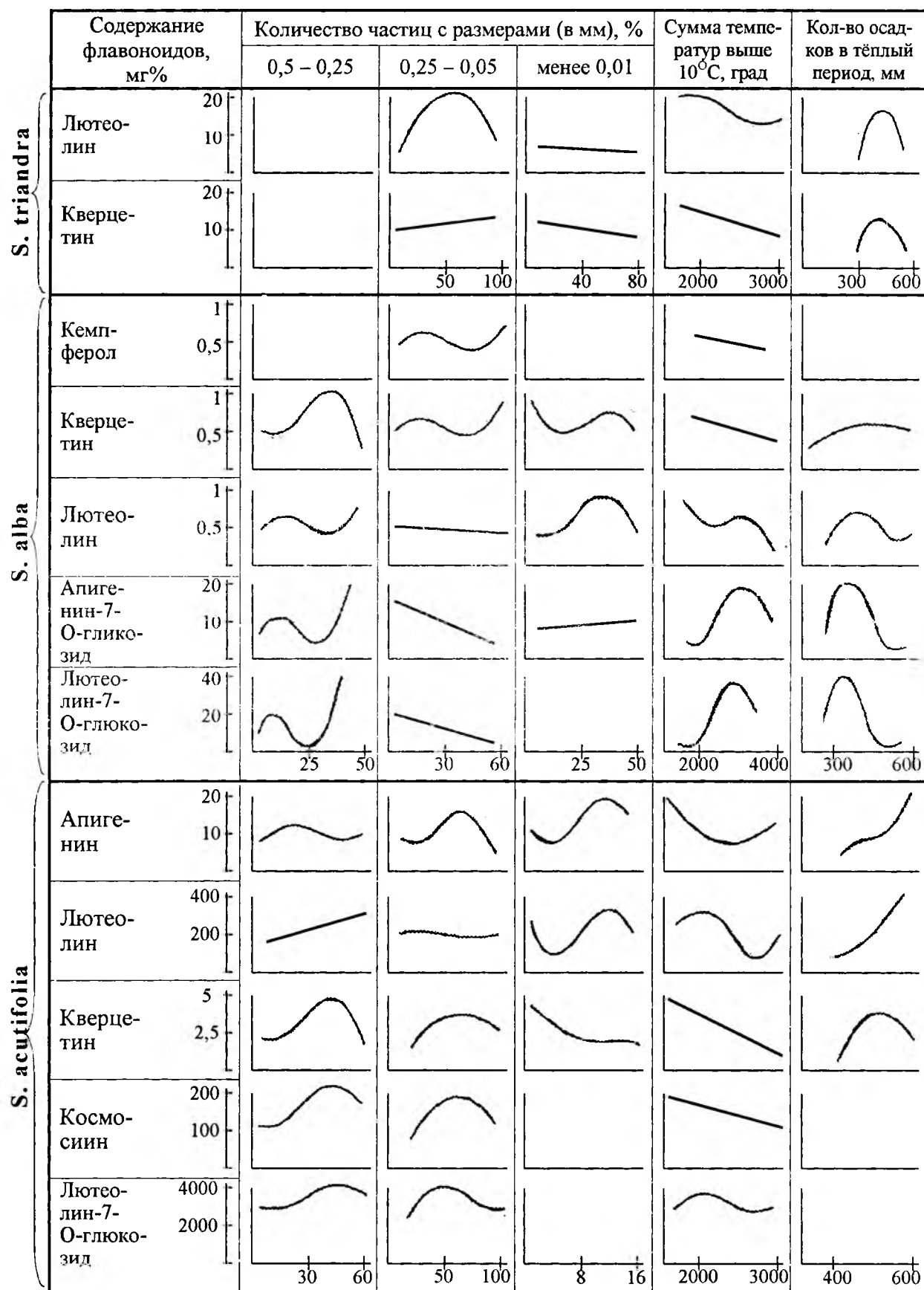


Таблица 3

Характер зависимости содержания флавоноидов в листьях ив от агрохимических показателей почвы в связи с замещением гидроксильных групп в А-кольце молекулы флавоноидов и гликозидированием в положении 3.

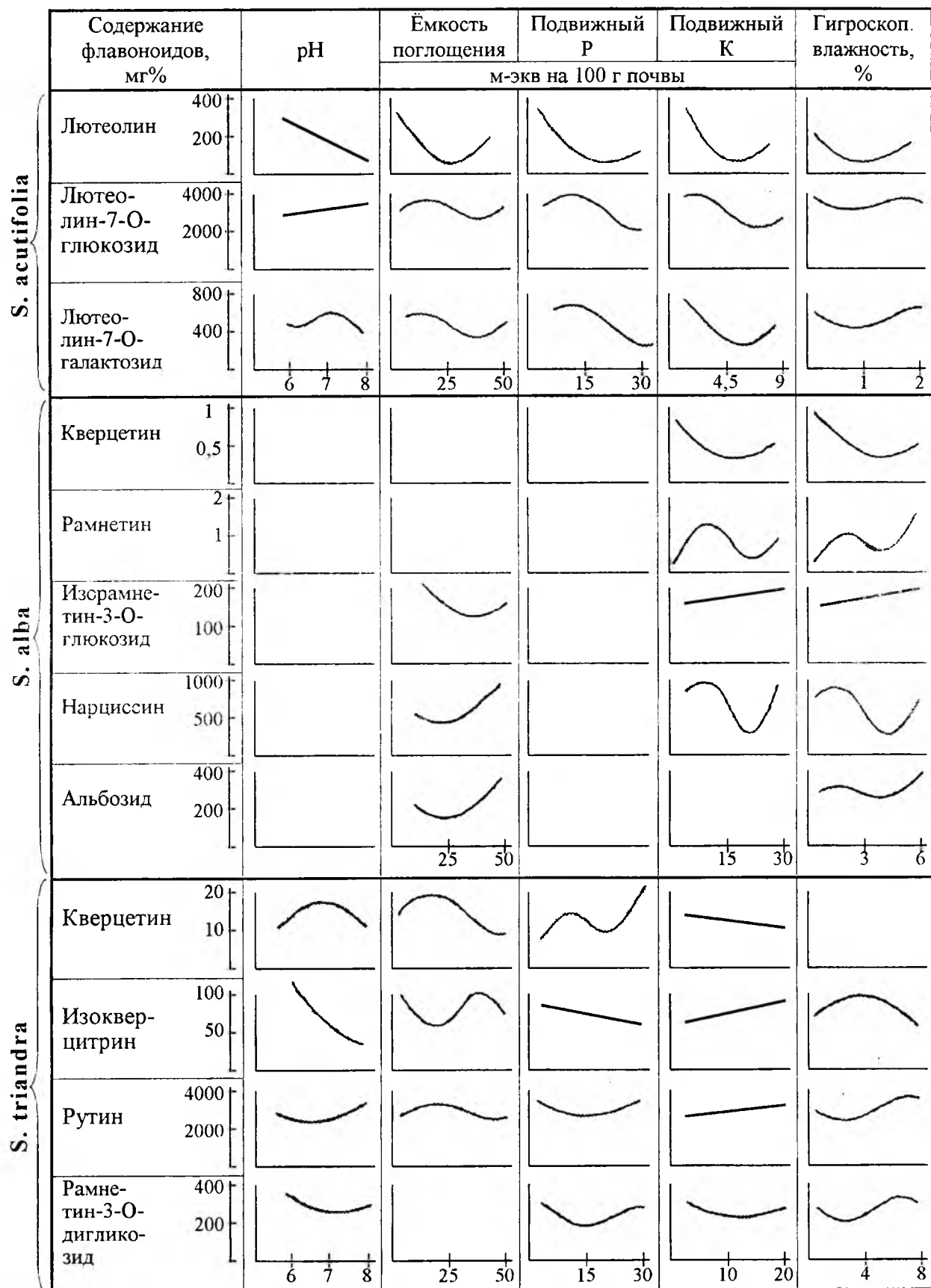




Таблица 4

Характер зависимости содержания флавоноидов в листьях ив от гранулометрического состава аллювия и климата в связи с замещением гидроксильных групп в А-кольце молекулы флавоноидов и гликозидированием в положении 3.

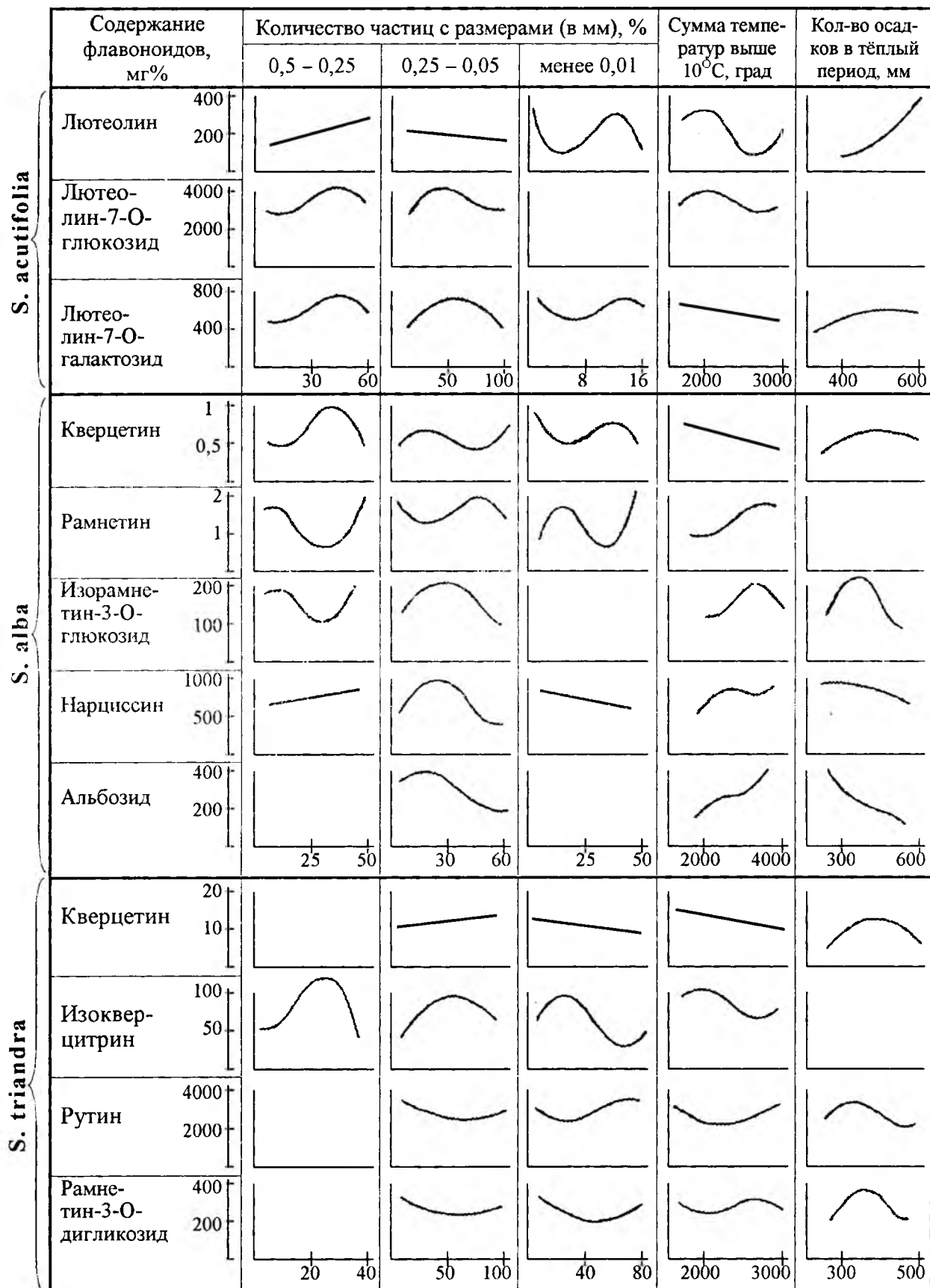


Таблица 5

Характер зависимости содержания флавоноидов в листьях ив от агрохимических показателей почвы в связи с замещением гидроксильных групп в В-кольце молекулы флавоноидов

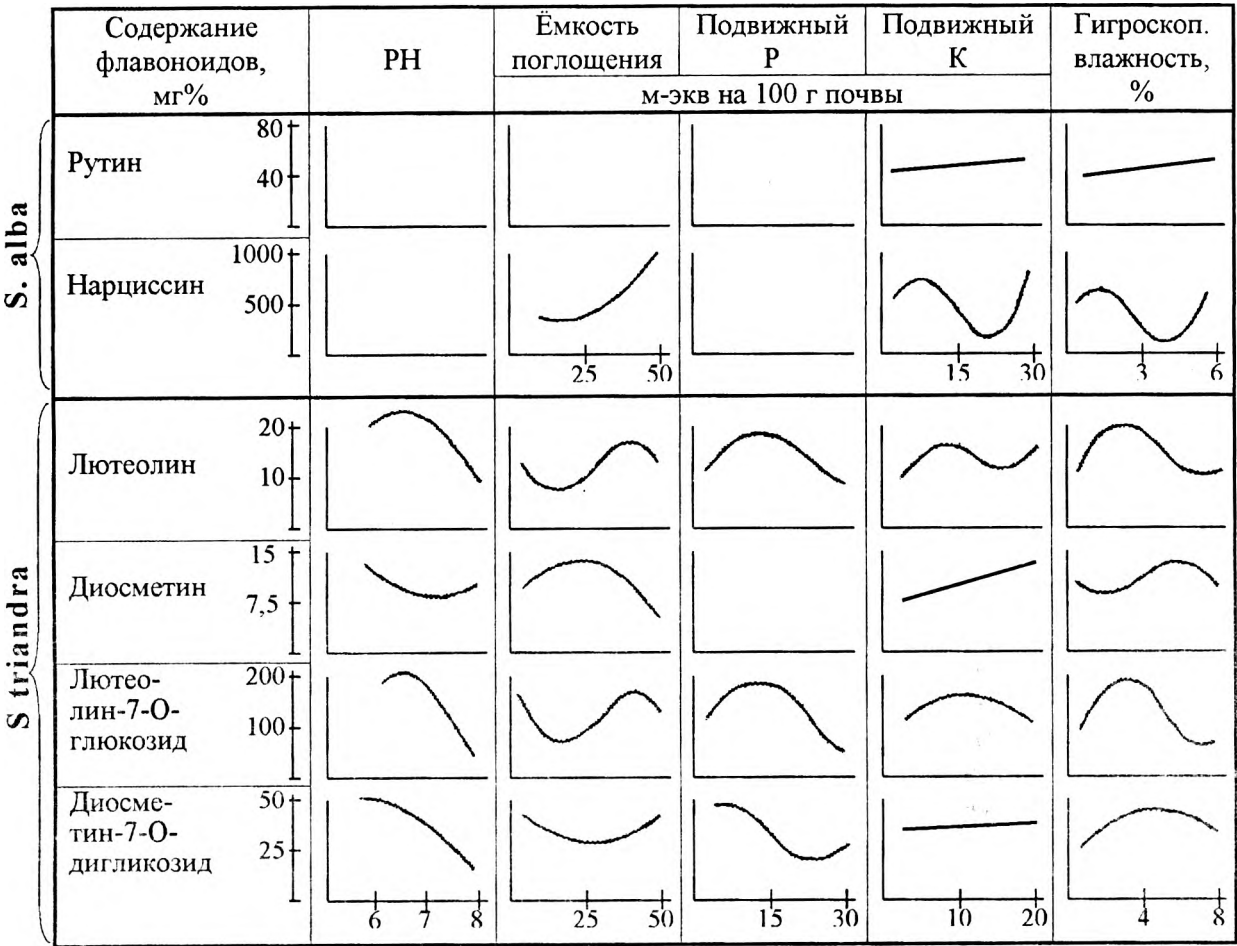


Таблица 6

Характер зависимости содержания флавоноидов в листьях ив от гранулометрического состава аллювия и климата в связи с замещением гидроксильных групп в В-кольце молекулы флавоноидов

